

**Strahleninduzierte Chromosomenaberrationen
nach ^{224}Ra**

**Chromosomenanalysen von bestrahlten
Morbus Bechterew- und Tuberkulose-Patienten**

Winfried Wiederholt

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. med. H. Spiess

Strahleninduzierte Chromosomenaberrationen

nach ²²⁴Ra

Chromosomenanalysen von bestrahlten Morbus Bechterew-
und Tuberkulose - Patienten

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Winfried Wiederholt

aus

Bad Warmbrunn

München

1974

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. J.D. Murken

Mitberichterstatter: Professor Dr. med. H. Spiess

Dekan: Professor Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 5.11.1974



Inhaltsübersicht

1. Einleitung
 - 1.1. Literaturübersicht
 - 1.2. Definitionen aus der Strahlenbiologie
 - 1.3. Geschichtlicher Überblick, physikalische Daten und biologische Wirkung des ^{224}Ra
2. Eigene Untersuchungen
 - 2.1. Patientengut (Bechterew, Tuberkulose)
 - 2.2. Methodik der Chromosomenpräparation
 - 2.3. Definition der Aberrationen
 - 2.4. Begutachtung der Mitosen
 - 2.5. Ergebnisse (Bechterew)
 - 2.6. Kontrollen
 - 2.7. Ergebnisse (Tuberkulose)
 - 2.8. Kontrollen
3. Diskussion
 - 3.1. Zeitliches Verhalten von Chromosomendefekten
 - 3.2. Überlebenszeit von Lymphocyten
 - 3.3. Vergleich der Ergebnisse
 - 3.4. Einfluß der Kulturzeit auf die Aberrationshäufigkeit
 - 3.5. Chromatidaberrationen
 - 3.6. Unspezifische Chromosomendefekte (U - Zellen)
 - 3.7. Numerische Aberrationen (N - Zellen)
 - 3.8. Verhalten der Aberrationshäufigkeit zur Strahlenmenge
4. Zusammenfassung
5. Literaturverzeichnis

1. Einleitung

Seit langem ist es bekannt, daß ionisierende Strahlen genetisches Material verändern können. Nachdem es Moorhead und Mitarbeitern (1960) gelang, eine relativ einfache Methode zur Chromosomendarstellung aus peripheren Lymphocyten zu finden, wurde es auch möglich, systematisch nach strahleninduzierten Chromosomenaberrationen zu suchen.

In der vorliegenden Arbeit sollte die cytogenetische Wirkung von ^{224}Ra (Th X) in Form des Peteosthor bei Patienten untersucht werden, die wegen Spondylarthritis ankylopoetica (Morbus Bechterew) und Knochentuberkulose mit Peteosthor behandelt worden waren. Die Blutabnahme und das Anlegen einer Kultur zur Chromosomenanalyse erfolgte im Durchschnitt 15 bis 20 Jahre nach Strahlenbelastung für Bechterew - Patienten und 20 bis 25 Jahre nach Strahlenbelastung für die Tuberkulose - Patienten.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Klärung der Frage, ob 15 bis 20 bzw. 20 bis 25 Jahre nach Strahlenbelastung mit ^{224}Ra Chromosomenaberrationen nachzuweisen sind und ob eine Beziehung zwischen Aberrationshäufigkeit und Strahlendosis herzustellen ist.

1.1. Literaturübersicht

1952 gelang es Hsu durch Vorbehandlung der Zellen mit hypotonischer Lösung eine brauchbare Technik der Chromosomenpräparation einzuführen. Nach dieser Methode wurde von Tjio und Levan (1956) gezeigt, daß der Chromosomensatz des Menschen in beiden Geschlechtern 46 beträgt. 1969 wurde von Lejeune und Mitarbeitern als erste Chromosomenaberration die Trisomie G_1 entdeckt. Nach den Arbeiten von Patau wurde auf der Konferenz in Denver (1960) eine einheitliche Nomenklatur eingeführt.

Mit Hilfe der von Moorhead und Mitarbeitern (1960) entwickelten Methode zur Kultur peripherer Lymphocyten, wurde es ermöglicht, die Chromosomen des Menschen relativ einfach darzustellen. Die im wesentlichen auf diesem Prinzip beruhende Mikromethode von Arakaki und Sparkes (1962) findet in modifizierter Form im genetischen Labor der Kinderpoliklinik der Universität München Anwendung.

Eine der ersten Untersuchungen über cytogenetische Veränderungen nach Applikation ionisierender Strahlen wurde von Touch und Mitarbeitern (1960) durchgeführt. Sie fanden bei zwei Patienten, die wegen Spondylarthritis ankylopoetica mit Röntgenstrahlen behandelt waren, schwere chromosomale Strukturveränderungen, wie acentrische Fragmente, dicentrische Chromosomen und Ringchromosomen.

Conen (1961) berichtete über genetische Untersuchungen an einem 7 Wochen alten Kind mit zahlreichen Anomalien zwei Monate nach verschiedenen Röntgenuntersuchungen, wobei er eine größere Anzahl von strukturellen Aberrationen fand.

Goodlin (1962) führte bei 30 Patientinnen, die wegen eines Zervixkarzinoms bestrahlt waren, beim Auftreten von Leukopenie Chromosomenuntersuchungen durch. Bei 4 von 19 verwertbaren Chromosomenpräparaten fand sich bei nur 54 bis

68 Prozent der Zellen die Modalzahl von 46.

Lindgreen und Norryd (1962) berichteten im gleichen Jahr von Chromosomendefekten bei einem 5 Jahre alten Zwillingsbruder, der wegen eines Medulloblastoms mit Röntgenstrahlen behandelt wurde. In der 4 Tage nach Beendigung der Bestrahlung angelegten Chromosomenkultur fanden sich in bis zu 29 Prozent der Zellen abnormale Chromosomen. Bei dem gesunden Zwillingsbruder fand sich ein normales Karyogramm.

Bender und Gooch (1962) untersuchten Chromosomenkulturen von einer Anzahl von Personen, die unbeabsichtigt einer gemischten Gamma- und Neutronenstrahlung ausgesetzt waren. Sie fanden Aberrationen 29 Monate nach Strahlenbelastung.

Eine umfangreichere Arbeit über strahleninduzierte Chromosomenaberrationen erschien 1962 von Buckton und Mitarbeitern. Sie führten Chromosomenuntersuchungen an 58 Patienten durch, die wegen Spondylarthritidis ankylopoetica röntgenbestrahlt worden waren. Dieser Arbeit kam besondere Bedeutung bei, da Court-Brown (1955) auf das Risiko einer Leukämieinduktion bei dieser Behandlungsform hingewiesen hatte. Karin Buckton fand zahlreiche Chromosomenaberrationen mit einem Gipfel in den ersten 6 Tagen nach Bestrahlungsende von 43 bis 65,5 Prozent der modalen Zellen.

Die Anzahl der instabilen Zellen, unter denen sie Zellen mit acentrischen Fragmenten, dicentrische Chromosomen und Ringe versteht, nimmt nach einem Maximum in der 2. bis 3. Woche rasch ab. Einige dieser Zellen fanden sich jedoch noch 5 Jahre und länger nach Bestrahlungsende.

Die Zahl der stabilen Zellen, unter denen sie Zellen mit abnormen monocentrischen Chromosomen versteht, blieb beinahe unverändert und wurde noch 20 Jahre nach der Bestrahlung nachgewiesen.

Das zu den stabilen Zellen zählende Ph^1 -Chromosom der Chronischen myeloischen Leukämie wurde nicht gefunden. Es ist

bekannt, daß es auch die Ph^1 -negative Chronische myeloische Leukämie gibt, die prognostisch ungünstiger ist als die Ph^1 -positive.

Sasaki und Mitarbeiter (1963) fanden bei 15 Personen (10 Industriearbeiter, 5 Radiologen), die über viele Jahre einer Strahlenbelastung von durchschnittlich 3 rad pro Jahr ausgesetzt waren, eine erhöhte Rate von Chromosomenaberrationen im Vergleich zu einer Kontrollgruppe von 10 Personen. Nach therapeutischer Ganzkörperbestrahlung zweier Personen fanden sich unmittelbar und mehrere Stunden danach eine signifikante Zunahme aneuploider Zellen und Strukturdefekte.

Millard (1965) konnte in ihrer Untersuchung an 6 Patienten keine Zunahme von aneuploiden Zellen feststellen. Buckton (1962) fand eine vorübergehende Zunahme von hypodiploiden Zellen, während Bender und Gooch (1962, 1963) von einer Zunahme sowohl der hypodiploiden als auch der hyperdiploiden Zellen mehrere Jahre nach Ganzkörperbestrahlung berichteten.

Chromosomendefekte wurden von Bloom und Tjio (1964) nach Röntgenkontrastdarstellung des Magen-Darm-Traktes bei 5 Personen festgestellt, wobei das Maximum der Defekte in den Kulturen 72 Stunden nach Exposition lag.

1965 beobachteten Massimo und Mitarbeiter Chromosomendefekte bei 10 Kindern nach wenigen bis zahlreichen diagnostischen Röntgenaufnahmen.

Doida und Mitarbeiter (1963) beschreiben in einer vergleichenden Studie mit anderen strahlenexponierten Gruppen bei 10 Frauen mit bestrahlten Mammakarzinomen ein vermehrtes Auftreten von Chromosomendefekten.

In der Arbeit von Millard (1965) fanden sich bei 6 Männern mit testikulären Neoplasmen nach Supravolttherapie in Knochenmarkszellen außer in einer Zelle mit 2 Chromatidbrüchen keine Chromosomendefekte. Im Gegensatz dazu waren in

32 Prozent der analysierten Zellen aus Blutkulturen solche Defekte vorhanden.

Warren und Meisner (1965) fanden bei 110 bestrahlten Karzinompatienten merkwürdigerweise keine polyploiden Zellen. Die ersten Dosis - Wirkung Beziehungen wurden von ihnen anhand dieser Patientengruppe erstellt. Die Häufigkeit von Zellen mit Chromosomenaberrationen nahm mit dem Produkt aus der Dosis in rad und der Feldgröße in cm^2 zu.

1963 wiesen Kumatori und Ishihara auf Chromosomenaberrationen in Leukozyten von Thorotrastpatienten hin. Thorotrast, ein Thoriumdioxid, wurde als Röntgenkontrastmittel mehreren tausend Menschen injiziert. Über ähnliche Effekte berichteten Fischer und Golop (1966, 1967) in einer größeren Untersuchung von Thorotrastpatienten.

Über die cytogenetische Wirkung von Röntgenkontrastmitteln berichtete Bauchinger (1964). 1966 beschrieb er schwere Chromosomenaberrationen von 37 bestrahlten Frauen mit verschiedenen Genitalkarzinomen. Chromosomenaberrationen bei beruflicher Strahlenbelastung wurden von ihm 1968 beobachtet. Im Durchschnitt enthielten 4,6 Prozent aller Zellen solche Defekte. Die Bruchrate war mit 0,056 Brüchen pro Zelle viermal höher als in den Kontrollen. Auch die Anzahl der aneuploiden Zellen war erhöht. Über das zeitliche Verhalten strahleninduzierter Chromosomenaberrationen berichtete Bauchinger 1969. Er fand bei den Untersuchungen von 84 Tumorpatientinnen unmittelbar nach Bestrahlung in 35 % der Zellen Strukturdefekte. Die Zahl der Zellen mit Strukturdefekten verringerte sich nach 3,5 Jahren auf 25 Prozent des Ausgangswertes unmittelbar nach Bestrahlung. In den folgenden Jahren war eine signifikante Abnahme nicht mehr zu erkennen. 1970 schreibt Bauchinger über die Wichtigkeit von Chromosomenuntersuchungen bei Personen mit chronischer beruflicher Strahlenbelastung für die biologische Dosiometrie. 1971 zieht Bauchinger in seiner Habilitationsschrift ein

Resümee seiner vorher erschienenen Arbeiten über strahleninduzierte Chromosomenaberrationen.

Über die zeitliche Veränderung von Chromosomendefekten nach Strahlenbelastung berichteten Buckton und Mitarbeiter (1962, 1967), Court-Brown (1965, 1968), Warren und Meissner (1965), Normen und Mitarbeiter (1968), Bauchinger (1968, 1969, 1971).

Über Chromosomendefekte 20 und mehr Jahre nach Strahlenbelastung berichtete Bloom (1966). Er fand in den Blutzellen von Überlebenden aus Hiroshima und Nagasaki nach 21 Jahren dizentrische Chromosomen, Ringe und minutes. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt Bloom (1967) bei Chromosomenanalysen von älteren Überlebenden aus Hiroshima und Nagasaki. Bei Untersuchungen für eine biologische Dosimetrie an Überlebenden der Atombombe fanden Saseki und Mitarbeiter (1968) in 9610 ausgewerteten Zellen nur 2 dicentrische Chromosomen. Die Blutkulturen stammten von Überlebenden annähernd 22 Jahre nach Strahlenbelastung.

1.2. Definitionen aus der Strahlenbiologie

In älterer Literatur wird häufig die elektrostatische Einheit (esE) für strahlenbiologische Angaben verwendet. In neuerer Literatur ist das Curie (Ci) gebräuchlich.

Die Anzahl der in einem Präparat im Zeitintervall dt erfolgenden radioaktiven Umwandlungen dividiert durch das Zeitintervall heißt Aktivität. Die Aktivität ist ein Maß für die " Stärke " des radioaktiven Präparates. Die Einheit der Aktivität ist die reziproke Sekunde (s^{-1}). Die Einheit ist das Curie (Ci).

$$1 \text{ Ci} = 3,7 \times 10^{10} \text{ s}^{-1}$$

Die biologische Wirksamkeit ionisierender Strahlung wird durch die Größe der übertragenen Energie in Form von Ionisationsprozessen bestimmt. Sie wird als Strahlendosis in R (Röntgen) und rad (radiation absorbed dose) angegeben. Dabei bedeutet die Dosis von 1 Röntgeneinheit die Übertragung von 93 erg durch ionisierende Strahlung auf 1 g Wasser oder Gewebe, die Dosis von 1 rad = 100 erg g^{-1} Materie.

Die Definition der Röntgeneinheit lautet: Das Röntgen soll eine solche Menge von Röntgenstrahlung oder anderer Strahlung sein, daß die mit ihr verbundene Korpuskularemission, bezogen auf 0,001293g Luft, Ionen beiderlei Vorzeichens in Luft erzeugt, welche eine Elektrizitätsmenge von 1 esE mit sich führt.

Bei den Strahlenschutzbestimmungen spielt die relative biologische Wirksamkeit (RBW) ionisierender Strahlen noch eine Rolle. Sie ist abhängig von der spezifischen Iondichte einer Strahlenart. Je dichter die einzelnen Ionisationen liegen, desto größer ist die relative biologische Wirksamkeit. Für folgende Strahlenarten ist der RBW-Faktor angegeben:

Röntgenstrahlen	RBW-Faktor	1
γ - Strahlen	"	0,7 - 1
β - Strahlen	"	1
α - Strahlen	"	10

So bedeutet die relative biologische Wirksamkeit von 10 für die α -Strahlung, daß bei gleicher Energiedosis wie z.B. bei der Röntgenstrahlung die RBW 10mal so hoch ist. Die RBW spielt sich in der Strahlenschutzseinheit, dem rem (radiation equivalent man) wieder.

$$1 \text{ rem} = 1 \text{ rad} \times \text{RBW-Faktor}$$

1.3. Geschichtlicher Überblick, physikalische Daten und biologische Wirkung des ^{224}Ra

Geschichtlicher Überblick

Untersuchungen von Uranerzen durch Pierre und Marie Curie führten 1898 zur Entdeckung des Radiums. Insbesondere durch die Arbeiten von Rutherford, der die Strahlenemission in α , β und γ -Strahlung verschiedener radioaktiver Stoffe entdeckte und die Hypothese vom freiwilligen Zerfall der radioaktiven Elemente aufstellte, fand das ^{224}Ra (Thorium X) seit 1903 Anwendung bei der Therapie der Spondylarthrititis ankylopoetica, rheumatischer Arthritis, Tuberkulose und Bluterkrankungen. Wegen seiner Schädigung auf das hämatopoetische System geriet das ^{224}Ra in Vergessenheit. Erst 1942 wurde es von Troch (1949) als " Peteosthor " bei der Behandlung des Morbus Bechterew und verschiedener Tuberkuloseformen wieder eingeführt. Troch nahm an, daß das dem ^{224}Ra vor der Injektion zugegebene Platin-Eosin-Gemisch (Peteos) als Vehikel zum kranken Gewebe diene. Diese Hypothese Trochs konnte von Spiess (1951, 1952), Scheer (1950) und Koch (1951) in den Jahren 1950 bis 1952 nicht bestätigt werden. Hinweise von Spiess, Poppe und Bürgers (Orthopädischer Kongreß 1950) auf mögliche Spätschäden nach ^{224}Ra führten 1952 zur Einstellung der Peteosthor-Therapie. Bis dahin waren circa 2000 Patienten mit den hohen Dosen des ^{224}Ra behandelt worden. In geringerer Dosis als von Troch angegeben, wird heute noch ^{224}Ra bei Morbus Bechterew appliziert. Auf dem XI. Internationalen Fortbildungskongreß der BÄK, Monte-

catini Terme, vom 28.5.-1.6.1973 berichtete G. Dahmen über langdauernde Beschwerdefreiheit bei Patienten, die wegen Spondylarthritis ankylopoetica mit ^{224}Ra (Ixthor-Buchler) behandelt wurden.

Physikalische Daten des ^{224}Ra

Das ^{224}Ra stammt aus der Thorium-Zerfallsreihe (Abb. 1). Als alpha-Strahler mit einer Halbwertszeit von 3,62 Tagen zerfällt das Isotop ^{224}Ra über verschiedene radioaktive Zwischenstufen zum stabilen Bleisotop mit dem Atomgewicht 208.

Abb. 1 : Thorium-Zerfallsreihe

Isotop	Name	Halbwertszeit
^{232}Th	Thorium	$1,39 \times 10^{10} \text{ a}$
^{228}Ra	Mesothorium I	6,7 a
^{228}Ac	Mesothorium II	6,13 h
^{228}Th	Radiothorium	1,91 a
^{224}Ra	THORIUM X	3,62 d
^{220}Rn	Thoron	54,5 s
^{216}Po	Thorium A	0,158 s
^{212}Pb	Thorium B	10,6 h
^{212}Bi	Thorium C	60,5 m
^{212}Po	Thorium C'	$3,0 \times 10^{-7} \text{ s}$
^{208}Pb	Thorium D (Thoriumblei)	

Biologische Wirkung des ^{224}Ra

Da ^{224}Ra ein Calciumhomolog ist, folgt es weitgehend dem Calciumstoffwechsel und wird in Knochen eingelagert. Nach Ergebnissen von Gerlach (1941) sind 40 Sekunden nach Injektionen von ^{224}Ra noch 30% der ^{224}Ra -Aktivität im Kreislauf nachweisbar. Der ^{224}Ra -Gehalt im Knochen steigt bis zum 4. Tag an, während er in anderen Organen stetig fällt. In Leber, Milz, Blut und Knochenmark lagert sich vor allem ^{212}Pb (Thorium B) an. Durch autoradiographische Knochenuntersuchungen von ^{224}Ra behandelten Ratten fand sich eine ^{212}Pb -Anreicherung in den subepiphysären Wachstumszonen der Gelenkköpfe. Scheer (1950) fand bei seinen Rattenversuchen

eine 35%ige ^{224}Ra -Ausscheidung über Stuhl und Urin, Müller (1971) konnte eine hohe Aktivität im Skelett und der Milz von Ratten nachweisen, denen er intraperitoneal ^{224}Ra appliziert hatte. Messungen von Maletskos (zitiert nach Spiess 1970) an Erwachsenen zeigten, daß die Hälfte des ^{224}Ra über den Stuhl ausgeschieden wurde, etwa 10% im Darm zerfiel, die übrigen 40% im Knochen oder im Weichteilgewebe. Nach Spiess und Mays (1970) kann angenommen werden, daß 60% der ^{224}Ra -Atome bei Kindern (1 bis 15 Jahre) im Knochen zerfallen, bei Jugendlichen (16 bis 20 Jahre) etwa 40% und bei Erwachsenen 20%.

Schon frühzeitig wurde von Fürmaier (1947), Spiess (1950), Lauenstein (1950), Schramm (1950), Harbers (1950) auf die Unwirksamkeit und Schädlichkeit der Peteosthor-Behandlung hingewiesen. Die aus Tierexperimenten gewonnenen Ergebnisse ließen Wachstumsschäden erwarten, Spiess (1951). Spiess, Poppe und Schoen (1962) berichteten 1962 über 53 im Kindesalter mit ^{224}Ra behandelte Patienten. Sie fanden bei 2/3 der Patienten, die mit insgesamt 2500-14000 esE ^{224}Ra i.v. behandelt waren, Störungen des Längenwachstums.

Die aus den Tierversuchen gewonnenen histologischen Präparate zeigten eine Schädigung des Epiphysenknorpels mit Hemmung der Knorpelzellmitosen, Blähung und Kernschädigung, unregelmäßigen Verknöcherungen und weitgehende Blockade der primären Markräume mit mangelhaftem Umbau zur Spongiosa. 19 Patienten waren nach einem bestrahlungsfreien Intervall von 10 bis 14 Jahren an bösartigen Knochengeschwulsten erkrankt. 1970 legte Spiess eine Dokumentation über 891 nachkontrollierte mit Peteosthor behandelte Patienten vor. Es traten 49 Knochensarkome auf, wobei bemerkenswert ist, daß 34 Patienten an Knochensarkomen erkrankt waren, die im Wachstumsalter mit ^{224}Ra behandelt worden waren. Die Zeit zwischen Auftreten der Knochensarkome und Beginn der ^{224}Ra -Behandlung lag bei den 19 Patienten zwischen 4 und 18 Jahren, Häufung zwischen 6 und 11 Jahren. Daraus konnte geschlossen werden,

daß je höher die Skelettdosis war umso kürzer das Intervall zwischen Behandlungsbeginn und Auftreten eines Sarkoms.

In einer weiteren Veröffentlichung berichten Spiess und Mays (1972) über das Auftreten von 53 Knochensarkomen aus einer Gruppe von 897 mit ^{224}Ra behandelten Patienten.

2. Eigene Untersuchungen

2.1. Patientengut

In der Zeit von 1967 bis 1971 wurden von 31 mit dem ^{224}Ra -Präparat " Peteosthor " behandelten Patienten Chromosomenanalysen durchgeführt. Diese Patienten waren von Professor Spiess, der die Anamnesen der rund 2000 von Troch mit Peteosthor behandelten Patienten verfolgt, in die Kinder-Poliklinik der Universität München zu Nachuntersuchungen eingeladen worden. Ausschlaggebend für diese Einladung war die Nähe ihres Wohnortes zu München.

19 Patienten waren wegen Spondylarthritis ankylopoetica, 12 wegen Knochentuberkulose mit ^{224}Ra behandelt worden.

Einen Überblick über Grundkrankheit, Alter bei Behandlungsbeginn und bei Anlegen des Chromosomenpräparates und Skelettdosis in rad geben die Tabellen 1 und 2.

Tabelle 1. Patienten mit Spondylarthritis ankylopoetica
(Morbus Bechterew)

Zahl	Patient	Alter bei Behandlungs- beginn	u. Anlagen eines Chrom.-präp.	Skelett- dosis (rad)	Grundkrankheit
1	Wilhelm K.	30	49	56	Morbus Bechterew
2	Johann M.	38	56	67	"
3	Hans Sch.	38	57	67	"
4	Karl-M. L.	42	49	67	"
5	Hans S.	53	69	67	"
6	Horst P.	32	50	67	"
7	Willi G.	38	53	78	"
8	Paul L.	31	48	84	"
9	Julius G.	47	65	84	"
10	Oskar L.	43	62	95	"
11	Ludwig L.	37	53	95	"
12	Michael H.	29	48	112	"
13	Johann N.	31	48	112	"
14	Johann F.	40	57	118	"
15	Ernst H.	31	49	140	"
16	Karl-D. M.	45	65	150	"
17	Joachim W.	35	52	246	"
18	Otto A.	35	54	323	"
19	Clemens B.	18	37	549	"

Tabelle 2. Patienten mit Tuberkulose

Zahl	Patient	Alter bei		Skelett- dosis (rad)	Grundkrankheit
		Behand- lungs- beginn	u. Anlegen eines Chrom.-Präp.		
1	Walter Z.	16	37	285	Knochen-TBC (Lendenwirbel)
2	Andreas L.	47	68	370	Knochen-TBC (re.Handgelenk)
3	Edgar W.	11	33	516	TBC
4	Rolf H.	6	27	621	Knochen-TBC (Hüfte re.)
5	Gisela D.	9	30	750	Knochen-TBC (Hüfte li.)
6	Michael H.	2	25	798	Knochen-TBC (4.Finger re.)
7	Hans-P. K.	9	32	815	Knochen-TBC (Knie li.u.re., Hüfte li.)
8	Maria K.	13	37	982	Knochen-TBC (3.Finger li.)
9	Maria H.	19	47	1030	Spondyl. tuberkulosa
10	Hans Sch.	11	32	2120	Knochen-TBC (Hüfte li.)
11	Angela D.	2	24	2220	Knochen-TBC (Hüfte,Knie re.)
12	Helmut R.	10	30	5200	Halsdrüsen-TBC

2.2. Methodik der Chromosomenpräparation

Die im genetischen Labor der Kinderpoliklinik angewandte Methode beruht im Prinzip auf der von Moorhead et al. 1960 entwickelten Technik. Bei dieser Methode werden zwei bis drei Tropfen Blut aus der Fingerbeere in 5ml eines Kulturmediums (Chromosomenmedium 1 A, Gibco) gebracht. Durch Zugabe von Phyto-hämagglutinin werden die Erythrocyten agglutiniert und anschließend abzentrifugiert. Durch eine weitere Wirkung des PHA transformieren sich die kleinen Lymphocyten zu blastenartigen Zellen und treten in die Mitose ein. Zur Blockierung der Zellteilung in der Metaphase wird das Spindelgift Colchizin zugesetzt.

Versuchsanordnung:

1. Sterile, graduierte, spitzkonische Zentrifugenröhrchen werden mit 5ml des Chromosomenmediums 1 A (Gibco, Grand Island Biological Co., bestehend aus Eagles Minimal-Medium, foetalem Kälberserum, Heparin, Penicillin, Streptomycin und PHA) gefüllt.
2. Aus der mit einer sterilen Lanzette verletzten Fingerbeere werden 0,2ml Blut in einer heparinisierten Pipette angesaugt und sogleich in das Kulturröhrchen geblasen.
3. Die Kulturen werden bei 37° C 68 Stunden lang inkubiert.
4. 1 mg Colcemid (Ciba) wird in 9 ml Aqua dest. gemischt. Davon werden 0,3 ml in jeden Kulturansatz gegeben.
5. 3 Stunden nach Colcemid-Zugabe, 71 Stunden nach Kulturbeginn wird der Bodensatz in den Röhrchen gut aufgeschüttelt und dann 5 Minuten bei 800 Umdrehungen/Minute zentrifugiert. Der Überstand wird bis auf 0,5 ml abgesaugt.
6. Zu 0,5 ml Bodensatz gibt man 1,5 ml 37° C warmes Aqua dest. unter ständigen Schütteln zu und inkubiert nochmals für 15 Minuten bei 37° C.

7. Nach der Inkubation wird bei 600 Umdrehungen/ Minute über 5 Minuten zentrifugiert, der zellfreie Überstand bis auf 0,5 ml abgesaugt, der Unterstand mit 4 ml Fixativ (bestehend aus 1 Teil Eisessig und 3 Teilen Methanol) vorsichtig überschichtet und anschließend mit einer Pasteur-Pipette langsam und gründlich aufgerührt.
8. Der bräunliche, klare Überstand wird wieder bis 0,5 ml abgesaugt, erneute Fixierung mit 4 ml Fixativ. Danach bleibt das Röhrchen bei Zimmertemperatur mindestens 20 Minuten stehen.
9. Nach Zentrifugieren und Absaugen bis auf 0,5 ml wird der Rest kräftig aufgerührt und mit der Pasteur-Pipette auf fettfreie (durch ein Äther-Alkohol-Gemisch) und in Aqua dest. bei 4° C aufbewahrte Objektträger aufgetropft.
10. Färbung mit frisch bereiteter Giemsa-Lösung (Verdünnung 1:20, ph 7,2) über 20 Minuten, danach scharfes Abwaschen der Farblösung mit Aqua dest.
11. Die getrockneten Präparate werden mit Eukitt (Fa. O. Kindler, Freiburg) eingebettet.

2.3. Definition der Aberrationen

Die Definitionen für Chromosomenaberrationen stützen sich auf ein von Bauchinger (1971) erarbeitetes Ordnungsschema. Diese Nomenklatur hat im Gegensatz zu der von Buckton et al. (1962) den Vorteil, daß sie vom morphologischen Befund ausgeht und keine hypothetische Annahmen über Stabilität und cytopathologische Bedeutung der Defekte zuläßt.

1. N - Zellen: Zellen mit normalem Chromosomenmuster, die den modalen Chromosomensatz von 46 Chromosomen aufweisen und keine sichtbaren strukturellen Chromosomendefekte zeigen. Entsprechend werden Zellen mit Abweichungen vom di-

ploiden Chromosomensatz als nichtmodale
N - Zellen bezeichnet.

2. S - Zellen: Zellen mit strukturellen Chromosomenaberrationen, die sich in zwei Grundtypen aufteilen lassen.

S₁-Aberrationen: Bruchstückverluste ohne sichtbare Strukturumbauten.

a) Chromatidbrüche, bei denen keine Kontinuität der Chromatidenstruktur zu erkennen ist. Das deletierte Fragment muß deutlich von seiner ursprünglichen Position abgesetzt sein.

b) Ein oder mehrere freiliegende acentrische Fragmente mit zwei Chromatidstücken ohne erkennbare Translokationsfiguren, mit denen sie in Zusammenhang stehen.

c) Defizienzen, die einen terminalen Chromosomen- oder Chromatidenverlust darstellen, bedingt durch einen einfachen, an deren Ende auftretenden Bruch.

d) Interstitielle Deletionen (minutes und doubleminutes). Dies sind feulgenpositive punkt- oder doppelpunktförmige Gebilde ohne Centromer, die in der Regel kleiner als der Chromatiddurchmesser sind.

S₂-Aberrationen: Sie können auf chromosomale Strukturumbauten zurückgeführt werden.

a) Symmetrische oder asymmetrische Chromatidaustauschvorgänge (interchanges).

b) Asymmetrische intra- und interchromosomale Strukturumbauten (intra- und interchanges), die zur Entstehung von Ringen und multicentrischen Chromosomen führen.

c) Atypische, nicht klassifizierbare Chromosomen. Dies sind monocentrische Chromosomen, die durch Translokations- bzw. Inversionsvorgänge entstanden sind und sich in keine der Chromosomengruppen des Denver-Systems (Denver-Report 1960) einordnen lassen.

3. U - Zellen: Zellen mit unspezifischen Chromosomendefekten. Sie enthalten Chromosomendefekte, die nicht mit einer echten Diskontinuität der Chromosomenstruktur verbunden sind.

a) Achromatische Lücken oder gaps, die als feulgennegative Regionen ohne echte Diskontinuität auf den Chromatiden erscheinen.

b) Pyknotische Chromosomen, deren Chromatin zusammengeballt oder stark angefärbt ist.

c) Fusionen von Satellitenchromosomen und terminalen Verknüpfungen anderer Chromosomen.

4. D - Zellen: Zellen mit diffusen Chromosomenaberrationen wie Pulverisierungen und Endspiralisationen

2.4. Begutachtung der Mitosen

Die Vorauswahl der Mitosen geschah mit dem Leitz-Orthoplan-Mikroskop bei hundertfacher Vergrößerung. Bei dieser Vergrößerung geeignet erscheinende Mitosen wurden bei tausendfacher Vergrößerung mit Ölimmersion betrachtet. Als Begutungskriterien diente die gute Erkennbarkeit und Ausbreitung der Chromosomen, deutliche Abgrenzbarkeit gegenüber anderen Mitosen und ausreichende Färbung. Nur eindeutig erkennbare Chromosomendefekte wurden registriert, ebenso numerische Abweichungen von ± 1 . Zwei-Bruch-Ereignisse,

wie sie z.B. bei der Bildung von acentrischen Fragmenten vorausgesetzt werden, wurden als ein Bruch bewertet. Von Mitosen mit erkennbaren aber nicht klar einzuordnenden Defekten wurden Karyogramme angefertigt.

Sämtliche Mitosen mit strukturellen Chromosomenaberrationen wurden zu Dokumentationszwecken photographiert. Einen Überblick über alle defekten Chromosomen geben die Abbildungen 2 und 3.

Um subjektive Interpretationen bei der Beurteilung zu vermeiden, wurden die fraglichen Mitosen von einer weiteren Person (Murken) nochmals kontrolliert.

Abbildung 2. Zeichnung sämtlicher, defekter Chromosomen aus der Gruppe der Bechterew-Patienten

Abb. 2a



A - Gruppe

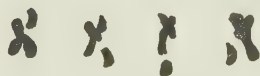


B - Gruppe



C - Gruppe

Acentrische Fragmente



D - Gruppe

E - Gruppe

Abb. 2b : Gans



A - Gruppe



B - Gruppe



C - Gruppe



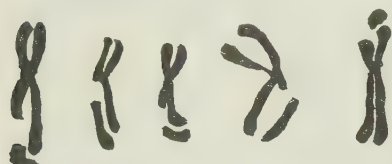
D - Gruppe



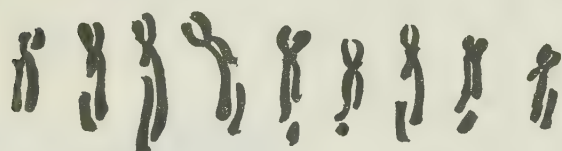
E - Gruppe

Abbildung 3. Zeichnung sämtlicher defekter Chromosomen
aus der Gruppe der Tuberkulose-Patienten

Abb. 3a : Brüche



A - Gruppe



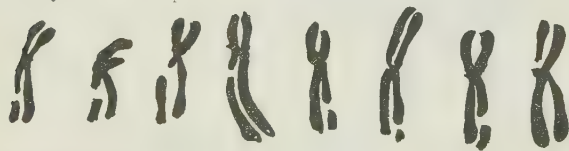
B - Gruppe



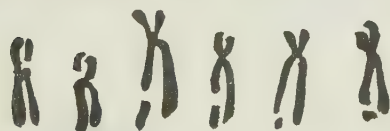
C - Gruppe

D - Gruppe

Abb. 3b : Gaps



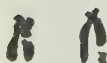
A - Gruppe



B - Gruppe



C - Gruppe



D - Gruppe



E - Gruppe

2.5 Ergebnisse (Spondylarthritis ankylopoetica)

Von 19 Patienten, die wegen Spondylarthritis ankylopoetica mit ²²⁴Ra behandelt worden waren, wurden insgesamt 1478 Zellen ausgewertet, durchschnittlich 78 pro Patient. Das Anlegen einer Chromosomenkultur erfolgte 15 bis 20 Jahre nach Behandlungsende, bei einem Patienten 7 Jahre danach. Das Durchschnittsalter betrug bei Behandlungsende 38 Jahre und bei Blutabnahme zur Chromosomenkultur 54 Jahre. Die Zahl der modalen N-Zellen betrug 1427 (97,7%). An nicht-modalen N-Zellen fanden sich 12 Mitosen mit 47 Chromosomen und 39 Mitosen mit 45 Chromosomen. Größere Abweichungen von mehr als ± 1 wurden nicht gewertet.

Es wurden 40 strukturelle Chromosomenaberrationen vom S_1 -Typ beobachtet. Dies entspricht einem Durchschnittswert von 2,7%. Die Veränderungen schwanken zwischen einem Maximum von 12% und einem Minimum von 0%. Es entfielen nach der Einteilung der Denver Nomenklatur (1962) auf die A - Gruppe 16 Chromosomen, auf die B - Gruppe 9 Chromosomen, auf die D - Gruppe ein Chromosom, auf die C - Gruppe 4 Chromosomen und auf die E - Gruppe ebenfalls 4 Chromosomen. Weiter wurden 6 acentrische Fragmente beobachtet.

Bei 3 Patienten fanden sich keine S_1 Veränderungen.

Mit unspezifischen Chromosomendefekten vom U - Typ fanden sich 44 Chromosomen (2,98).

Veränderungen vom S_2 -Typ wurden nicht gefunden.

An Gesamtveränderungen (S u. U) ergab sich ein Durchschnittswert von 5,67%.

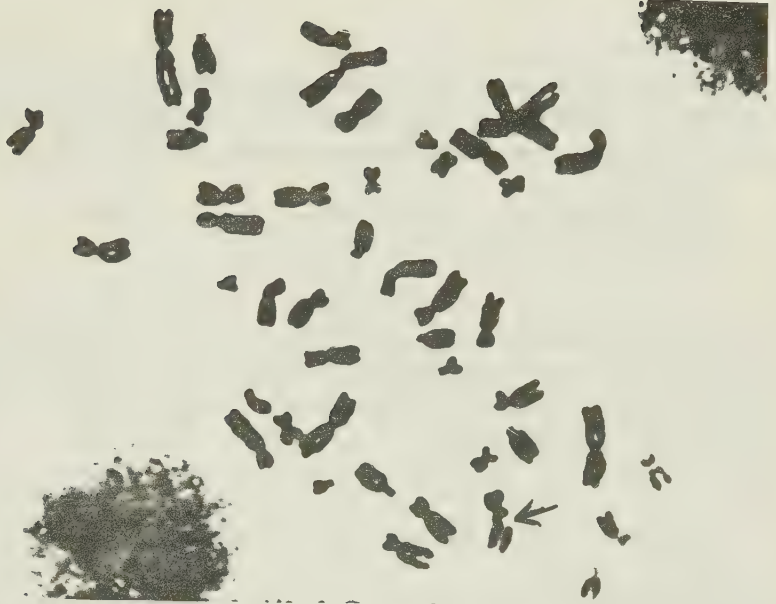


Abb. 4 Aberration vom S_1 -Typ

10 Chrom.



Abb. 5 Aberration vom U - Typ (Gap)

Fünf Patienten, die die gleiche Strahlenmenge erhalten hatten, zeigten Aberrationen zwischen 1,8% und 12%. In diese Gruppe gehört auch der Patient, von dem 7 Jahre nach Strahlenexposition eine Chromosomenanalyse durchgeführt wurde (1,8%).

Die mittlere Zahl von Brüchen pro Zelle betrug 0,027, an Gesamtveränderungen (S u. U) 0,056.

Einen Überblick über Patienten, Alter bei Behandlungsbeginn, Dauer der Behandlung mit Thorium X, Blutabnahmetermine, Alter des Patienten bei Abnahme, Jahre nach Ende der Behandlung, Skelettdosis in rad und numerische und strukturelle Aberrationen gibt Tabelle 3.

2.6 Kontrollen (Spondylarthritidis ankylopoetica)

Für Kontrolluntersuchungen stellten sich 8 Patienten zur Verfügung. Sie wurden wegen Spondyl.ankylo. in der Orthopädischen Poliklinik der Universität München ambulant behandelt. Sie hatten nie das Strahlentherapeutikum Thorium X erhalten. Die letzten Röntgenuntersuchungen lagen mehr als ein Jahr zurück.

Von den 8 Chromosomenkulturen waren nur 5 angegangen. Es wurden insgesamt 274 Zellen ausgewertet. Es fanden sich 2 Brüchen oder 0,73% und 7 Gaps (2,6%).

Tabelle 3

Patienten mit Spondylarthrits ankylopoetica, die mit ^{224}Ra behandelt wurden und nach steigender Skelettdosis in rad die gefundenen Werte an numerischen und strukturellen Aberrationen

Fall Nr.	Patienten	Alter nach ThX Therapie	Blut-abnahme	Alter der Pat. bei Abnahme	Jahre nach Ende der ThX Therapie	Skelettdosis in rad	Anzahl der Mitosen	Aberrationen						
								numer.	strukturelle					
								n+1	n-1	Gap	Brüche	acent.Frag.	Prozent der Brüche	struk.t.Aberr. gesamt
1	Wilhelm K.	30	29. 4.69	49	19	56	113	-	7	4	-	-	-	4
2	Johann M.	38	16.12.69	56	18	67	50	-	-	1	1	1	4	3
3	Hans Sch.	38	30. 4.69	57	19	67	52	2	1	2	1	-	1,9	3
4	Karl-M. L.	42	5. 5.69	49	7	67	55	-	1	4	1	-	1,8	5
5	Hans S.	53	16.12.69	69	16	67	50	-	-	2	4	2	12	8
6	Horst P.	32	2. 6.69	50	18	67	108	-	3	6	3	-	2,8	9
7	Willi G.	38	13. 6.67	53	15	78	110	-	1	5	-	-	-	5
8	Paul L.	31	16.12.68	48	17	84	50	-	-	-	1	-	2,0	1
9	Julius G.	47	18. 4.69	65	18	84	70	1	-	-	1	-	1,4	1
10	Oskar L.	43	10. 4.69	62	19	95	77	1	4	3	1	1	2,6	5
11	Ludwig L.	37	16.12.68	53	16	95	56	-	1	1	5	-	9,0	6
12	Michael H.	29	29. 4.69	48	19	112	109	1	-	4	2	-	1,8	6
13	Johann N.	31	13.11.69	48	17	112	110	-	4	5	4	-	3,6	9
14	Johann P.	40	28. 5.69	57	17	118	100	3	8	3	3	-	3,0	6
15	Ernst H.	31	16.12.68	49	18	140	52	-	-	-	2	-	3,9	-
16	Karl-D. M.	45	21. 4.69	65	20	150	133	3	3	1	2	-	1,5	3
17	Joachim W.	35	16.12.68	52	17	246	45	-	1	-	2	2	8,9	4
18	Otto A.	35	10. 6.69	54	19	383	29	-	-	-	-	-	-	-
19	Clemens B.	18	17.12.69	37	19	549	110	1	5	3	1	-	0,9	4

2.7 Ergebnisse (Tuberkulose)

Von den 12 Tuberkulose - Patienten, deren durchschnittliches Lebensalter bei Behandlungsende mit Thorium X 16 Jahre betrug, konnten insgesamt 1185 Zellen ausgewertet werden, im Durchschnitt 99 Zellen pro Patient. Die Zahl der modalen N-Zellen betrug 1138 oder 96,3%. An nichtmodalen N-Zellen fanden sich 10 Zellen mit 47 Chromosomen und 37 Zellen mit 45 Chromosomen.

An strukturellen Chromosomenaberrationen vom S_1 - Typ (Brüche) wurden 24 Defekte oder 2,03% beobachtet. An U - Veränderungen (Gaps) fanden sich 21 Defekte (1,77%). Die Veränderungen von S - und U - Typ zusammen lagen bei 3,79%. Die Veränderungen vom S- Typ schwanken zwischen einem Minimum von 0% und einem Maximum von 6,2%.

Die mittlere Zahl von Brüchen pro Zelle betrug 0,020, an Gesamtveränderungen (Brüche u. Gaps) 0,038.

Bei 3 Patienten wurden überhaupt keine S_1 - Veränderungen gefunden.

Einen Überblick über die Patienten, Alter bei Behandlungsbeginn, Dauer der Behandlung mit Thorium X, Blutabnahmetermin, Alter der Patienten bei Abnahme, Jahre nach Ende der Behandlung, Skelettdosis in rad und numerische und strukturelle Aberrationen gibt Tabelle 4.

2.8. Kontrollen (Tuberkulose)

Für Kontrolluntersuchungen konnten im Zentralkrankenhaus Gauting 6 Patienten gewonnen werden, die an Knochentuberkulose erkrankt waren. Thorium X war ihnen niemals als Therapeutikum appliziert worden.

Tabelle 4

Patienten mit Knochentuberkulose, die mit ^{224}Ra behandelt wurden, und nach steigender Skelettdosis in rad die gefundenen Werte an numerischen und strukturellen Aberrationen

Fall Nr.	Patienten	Alter nach ThX Therapie	Blutabnahme-termin	Alter der Pat. bei Abnahme	Jahre nach Ende der ThX Therapie	Skelettdosis in rad	Aberrationen						
							numer.	strukt.					
							Anzahl der Mitosen	n+l	n-l	Gap	Brüche	Prozent der Brüche	strukt. Aberr. gesamt
1	Walter Z.	17	25. 4.69	37	20	285	115	1	4	-	2	1,7	2
2	Andreas L.	47	9. 6.69	68	21	370	105	1	3	4	2	1,9	6
3	Edgar W.	11	17. 9.71	33	22	516	100	-	-	2	4	4,0	6
4	Rolf H.	7	24. 4.69	27	20	621	105	1	2	1	2	1,9	3
5	Gisela D.	9	10. 3.70	30	21	750	103	3	5	-	-	-	-
6	Michael H.	3	14. 4.70	25	22	798	112	1	6	3	3	2,7	6
7	Hans-P. K.	9	10. 4.70	32	23	815	110	2	6	2	-	-	2
8	Maria K.	14	1. 9.71	37	23	982	52	-	-	1	-	-	1
9	Maria H.	22	23. 8.71	47	25	1030	65	-	-	1	4	6,2	5
10	Hans Sch.	11	20. 3.70	32	21	2120	114	1	10	1	1	0,9	2
11	Angela D.	3	11. 3.70	24	21	2220	104	-	1	2	1	0,9	3
12	Helmut R.	10	18 6.71	30	20	5200	100	-	-	4	5	5,0	9

Nach Befragung des behandelnden Arztes hatten diese Patienten relativ wenig Röntgenstrahlen erhalten.

Von den 3 angegangenen Chromosomenkulturen wurden 150 Zellen ausgewertet. Es fanden sich 4 Brüche (2,66%) und 5 Gaps (3,3%), an Gesamtveränderungen 6%.

3 Diskussion

Chromosomendefekte, seien sie durch Viren, Bakterien, Pharmaka oder Strahlen entstanden, müssen mit der Zeit einem Eliminationsprozess unterliegen. Wäre dies nicht der Fall, so müßte es mit jeder Zellteilung zu einer Erhöhung dieser Defekte kommen und damit auch nachweisbar sein. Die Mechanik der Zellteilung läßt eine Kumulierung von Chromosomenaberrationen nicht zu. Eine Abnahme sämtlicher Aberrationstypen wurde von verschiedenen Autoren mit größer werdendem, zeitlichen Abstand zum Defekteschehen beschrieben.

3.1. Zeitliches Verhalten von Chromosomendefekten

Die ersten Untersuchungen über strahleninduzierte Chromosomendefekte stammen von Tough und Mitarbeiter (1960). Er fand bei 2 Patienten, die wegen Spondylarthritis ankylopoetica mit Röntgenstrahlen behandelt worden waren. Strukturveränderungen wie dicentrische Chromosomen, Ringchromosomen und acentrische Fragmente. 4 Tage nach Bestrahlung beobachtete Tough in 40% der ausgewerteten Zellen strukturelle Aberrationen, einen Monat später nur noch 18%. Bei den 2. Patienten wird am 3. Tag nach Bestrahlung das Maximum der Defekte mit 41% angegeben. 11 Tage nach Bestrahlung sind die strukturellen Aberrationen auf 9% zurückgegangen.

Bender und Gooch (1962) untersuchten Blutkulturen von Personen, die zufällig einer gemischten Gamma- und Neutronenbestrahlung ausgesetzt waren. Sie fanden noch signifikant erhöhte Aberrationswerte 29 Monate nach Strahlenbelastung.

Millard (1965) berichtet über Chromosomenuntersuchungen von 6 Patienten, die wegen eines testikulären Neoplasmas mit Supervolt-Therapie behandelt wurden. Nach Ende der Bestrahlung fand sie im Durchschnitt 32% der Zellen mit strukturellen Aberrationen. 19 Monate nach Strahlenbelastung hatte sich dieser Wert auf 8% vermindert.

Buckton und Mitarbeiter veröffentlichen 1962 eine Studie über 58 wegen Spondylarthrititis mit Röntgen-Strahlen behandelte Patienten. Sie fanden in der 1. bis 3. Woche nach Bestrahlung ein Maximum an strukturellen Aberrationen von 26,8%. Im 2. bis 5. Jahr nach Bestrahlung zeigten noch 14,2% der Zellen Defekte. 15 bis 20 Jahre nach Bestrahlung fanden sie noch in 7% der Zellen strukturelle Aberrationen.

Die angegebenen Prozentzahlen wurden aus den von Buckton angegebenen Zahlen über Chromatidbrüche, stabile und instabile Zellen berechnet, um damit vergleichbare Werte zu bekommen, die in dieser Arbeit den Veränderungen vom S-Typ entsprechen.

Die Klassifikation von Buckton (1962, 1964, 1967) erfolgt nicht nach morphologischen Merkmalen, sondern nach dem funktionellen Verhalten von Aberrationen in der Mitose.

Es werden 3 Zelltypen unterschieden:

- A - Zellen: Modale oder nichtmodale Zellen ohne strukturelle Chromosomendefekte
- B - Zellen: Zellen, die nur Aberrationen vom Chromatidtyp enthalten (Chromatidbrüche oder -gaps)
- C - Zellen: Zellen, die Aberrationen vom Chromosomentyp enthalten, mit der Unterteilung in
 - C_u - Zellen: Zellen, die sogenannte "unstable" Aberrationen enthalten, wie Ringchromosomen, dicentrische Chromosomen und acentrische Fragmente
 - C_s - Zellen: sogenannte "stabile" Zellen wie monocentrische Chromosomen, die weiter teilungsfähig sein sollen.

1964 veröffentlicht Buckton eine Studie über den Einfluß der Kulturdauer auf die Aberrationshäufigkeit. In den 72-Stunden Kulturen findet sie unmittelbar nach Bestrahlung in 52% der ausgewerteten Zellen Defekte (B - Zellen ohne Chromatid-Gaps, C_u und C_s - Zellen). 5 Jahre nach Bestrahlung sind in 18% der

Zellen noch Defekte zu finden.

Court-Brown (1965) berichtet über Chromosomenuntersuchungen an 78 Patienten, die wegen Spondylarthritidis ankylopoetica mit Röntgen-Strahlen behandelt wurden. Bis 7 Tage nach Bestrahlung fanden sich in 44% der Zellen strukturelle Aberrationen (C_u - und C_s - Zellen). 8 Jahre später ließen sich Defekte in 13,1% der Zellen nachweisen.

In einer weiteren Arbeit über 66 bestrahlte Patienten gibt Buckton (1967) die Prozentzahlen der defekten Zellen 1 bis 10 Tage nach Bestrahlung mit 49% an, 5 Jahre nach Bestrahlung mit 16,3% und nach 10 Jahren mit 14,2% an.

Bauchinger (1973) fand bei bestrahlten Tumorpatientinnen unmittelbar nach Bestrahlung in 22% der Zellen strukturelle Chromosomendefekte. Der Prozentsatz der S - Zellen fällt im Zeitraum von 3,5 Jahren auf weniger als ein Drittel der ursprünglichen Werte ab. Während der nächsten 20 Jahre nach Strahlenbelastung liegt bei ihm der Prozentsatz der S - Zellen zwischen 7,1% und 3,6% und bleibt damit auch weiterhin über seinen Kontrollwerten.

In einer 2. Untersuchungsreihe mit der Begrenzung der Kulturzeit auf 48 Stunden kommt Bauchinger zu ähnlichen Ergebnissen wie in der 1. Untersuchungsreihe mit 68 Stunden - Kulturen. Minutes und Defizienzen sind nach Bestrahlung signifikant vermehrt. Nehmen aber sehr schnell ab, so daß sie nach einem Jahr im Kontrollbereich liegen. Dicentrische Chromosomen und acentrische Fragmente sind die von Bauchinger am häufigsten beobachteten Aberrationstypen. Mit größerem Abstand zur Bestrahlung nehmen sie rasch ab, werden aber noch mehrere Jahre nach Bestrahlung erhöht gefunden. Aberrationen vom S_2 - Typ wie Ringchromosomen und multicentrische Chromosomen nehmen nach Strahlenbelastung rasch ab. Sämtliche Autoren geben unmittelbar nach Bestrahlung sehr hohe Aberrationswerte an, am höchsten Buckton (1964) mit 52%, am niedrigsten Bauchinger (1971) mit 22%. Es fällt auf, daß die Angaben der Edinburgher Gruppe um Court-Brown, Buckton und Mitarbeiter sehr hoch liegen. Dies dürfte an der Tatsache liegen, daß 48 Stunden - Kul-

turen ausgewertet wurden. Schon Millard (1965), die die Kriterien der Edingburgher Gruppe für ihre Untersuchungen benutzte, gibt Werte mit 32% an. Selbst aus der Studie von Buckton (1962) lassen sich Aberrationen vom S- Typ mit 26,8% berechnen.

Über den Einfluß der Kulturzeit auf die Aberrationshäufigkeit wird später berichtet.

32. Überlebenszeit von Lymphocyten

Sowohl in den Chromosomenpräparaten der Patienten der Bechterew-Gruppe 15 bis 20 Jahre nach der Strahlenbelastung mit ^{224}Ra als auch in den Präparaten der Tuberkulose-Patienten 20 bis 25 Jahre nach Behandlung mit ^{224}Ra wurden Aberrationen gefunden, die höher lagen als die der Kontrollen. Daß die Verteilung der Aberrationen in beiden Patientenkollektiven nicht zufällig war, wurde mit dem χ^2 -Anpassungstest berechnet. Bei der Gruppe der Bechterew - Patienten findet sich ein χ^2 von 123,26. Bei 7 Freiheitsgraden ergibt sich ein p, das kleiner als 0,001 ist. Das entspricht einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 99,9%, daß die gewonnene Verteilung nicht zufällig ist.

Bei den Tuberkulose - Patienten ergab sich für den χ^2 -Test ein ähnliches Bild. χ^2 betrug 18,47. Bei 5 Freiheitsgraden ($0,01 < p < 0,001$) kommt man zu einer Wahrscheinlichkeit von 99% bis 99,9%, daß die gewonnene Verteilung nicht zufällig ist.

Daß Chromosomenaberrationen so viele Jahre nach Strahlenbelastung gefunden werden, läßt die Vermutung zu, daß bestimmte Zelltypen eine sehr hohe Überlebensrate haben müssen, ohne eine Zellteilung durchzuführen. Einige Autoren geben Überlebenszeiten für kleine Lymphocyten an. Norman und Sasaki (1966) geben die Überlebenszeit von Zellen mit acentrischen Fragmenten mit 5030 ± 64 Tagen an, von Zellen mit dicentrischen Chromosomen mit 788 ± 98 Tagen. Buckton und Mitarbeiter (1967) versuchten die mittlere Lebensdauer von Lymphocyten anzugeben. Sie kamen zu einem Wert von 1574 Tagen bei 95% der Zellen mit einer Schwankung von 819 bis 6743 Tagen. Fitzgerald (1967) vermutete, daß "unstable" Zellen einer langlebigen Lymphocytenpopulation mit immunologischen Funktionen zugehören. Auf einen Antigenreiz sollen spezifische Lymphocyten, sogenannte "memory cells", entstehen, die in jahrelanger Ruhigstellung auf einen erneuten Antigenreiz sich plötzlich in Teilung begeben.

3.3. Vergleich der Ergebnisse

Das Ergebnis der vorliegenden Arbeit bestätigt mit 2,7% (Bechterew-Patienten) an Aberrationen vom S - Typ, daß 15 bis 20 Jahre nach Strahlenbelastung mit ^{224}Ra Chromosomenaberrationen gefunden werden. Dieser Wert liegt viermal so hoch als der der Kontrollen (0,73%) und korreliert mit einem Ergebnis von Bauchinger (1971), der bei 12 Frauen, die wegen eines Genitalkarzinoms bestrahlt wurden, 15 bis 20 Jahre nach Strahlenbelastung Aberrationen vom S - Typ mit 3,6% fand.

Auch das Ergebnis der Aberrationen vom S - Typ mit 2,03% bei den Tuberkulose-Patienten 20 bis 25 Jahre nach Strahlenbelastung ist als erhöht anzusehen. Ein Vergleich mit Zahlen von Bauchinger (1971), der bei 10 wegen eines Genitalkarzinoms bestrahlten Patientinnen 20 und mehr Jahre nach Strahlenbelastung Chromosomenuntersuchungen durchführte, ist möglich. Er fand in 3,6% der Zellen Aberrationen vom S - Typ. Ein Vergleich der eigenen Werte mit denen der Kontrollgruppe, die mit 2,6% höher liegen als die des untersuchten Patientenkollektivs, überrascht nicht, wenn die Umstände der Kontrollpatienten berücksichtigt werden. Sämtliche Kontrollpatienten waren wegen einer aktiven Knochentuberkulose stationär untergebracht. Es wurde von verschiedenen Autoren beschrieben, daß Infektionskrankheiten Chromosomenaberrationen auslösen können. Da es sich bei der Kontrollgruppe um Patienten mit einem floriden Krankheitsgeschehen handelte, kann eine Induktion der Aberrationen angenommen werden. Zu berücksichtigen ist ferner, daß diese Patienten zu diagnostischen Zwecken Röntgenstrahlen erhalten hatten, auch wenn sie vom behandelnden Arzt unter dem Kriterium einer möglichst geringen Röntgen-Bestrahlung ausgesucht worden waren. Ein Vergleich mit Werten der Kontrollgruppe der Bechterew-Patienten ergibt eine dreimal so hohe Aberrationsrate.

Buckton (1962) führte an 58 Patienten Chromosomenanalysen durch, die wegen Morbus Rechterew mit Röntgen-Strahlen behandelt wurden. Die maximale Teilkörperbestrahlung auf Wirbelsäule und Becken betrug 1500 rad. In der Gruppe 15 bis 20 Jahre nach Strahlenexposition wertete sie 300 Zellen aus. Schlüsselt man ihre nach B -, C_u und C_s - Zellen eingeteilte Aberrationen entsprechend der Definition der S - Zellen auf, so kommt sie auf einen Wert von 7%. Er liegt 2,5 mal so hoch wie der eigene und doppelt so hoch als der von Bauchinger. Dieser Wert überrascht insofern nicht, als Buckton für ihre Chromosomenuntersuchungen Kulturzeiten von 48 Stunden benutzte.

3.4 Einfluß der Kulturzeit auf die Aberrationshäufigkeit

Buckton und Pike (1964) untersuchten Blutkulturen auf den Prozentsatz von Zellen mit "unstabilen" Chromosomenverhältnissen in Abhängigkeit zur Zeit nach Bestrahlung und auf den Einfluß der Kulturzeit auf die Aberrationshäufigkeit. Die Verlängerung der Kulturzeit auf 78 Stunden brachte eine deutliche Verminderung der Zahl der C_u - Zellen. Es wurde vermutet, daß diese Zellen sich in der ersten Teilung (X_1) nach Bestrahlung darstellen lassen, also in den 48 Stunden - Kulturen, nicht aber nach der zweiten Teilung (X_2) in den 72 Stunden - Kulturen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Ishiara und Kumatori (1965), Heddle und Mitarbeiter (1967), Sasaki und Norman (1967), Eender und Brewen (1969) und Antoshina (1969). Auch Bauchinger bestätigt diese Ergebnisse. Aus diesen Befunden kann geschlossen werden, daß nur wenige Zellen mit acentriscen Fragmenten, dicentrische Chromosomen und Ringchromosomen mehrere Zellteilungen überstehen können. Dies mag auch eine Erklärung dafür sein, daß in der vorliegenden Arbeit die häufig beschriebenen Ringchromosomen nicht gefunden wurden. In der Literatur wird für Ringchromosomen und dicentrische Chromosomen eine Häufigkeit von 1 auf 2000 Zellen angegeben.

3.5 Chromotidaberrationen

In der vorliegenden Arbeit wurden Aberrationen vom S -Typ vorwiegend als Chromatidbrüche gefunden. Diese Tatsache steht in gewissem Widerspruch zu dem Vorhergeschriebenen. Eine Deutung gibt Bauchinger (1971), der auch in seiner Untersuchung über Endoxan induzierte Chromosomenaberrationen sehr hohe Werte für Chromatidbrüche angibt.

Chromatidbrüche wurden von verschiedenen Autoren aus folgenden Gründen nicht bewertet. Die Chromosomen der Lymphocyten sollen in der G_1 -Phase des Zellzyklus vorliegen. Nach einer Bestrahlung in vivo dürften demnach nur Aberrationen vom Chromosomentyp zu erwarten sein. Chromatidaberrationen sollen bevorzugt in den S- und G_2 -Phasen induziert werden, die aber erst nach Transformation der Lymphocyten in den Kulturen erreicht werden. Dies führte zur Annahme, daß Chromotidbrüche erst in vitro entstehen müssen. Bei längerer Kulturdauer müßten daher mehr Chromotidbrüche zu beobachten sein als in 48 Stunden - Kulturen. Bauchinger fand im Vergleich zweier Untersuchungsreihen von 48 und 72 Stunden - Kulturen keine signifikanten Unterschiede der Chromatidbrüche. Demnach müßten Chromatidaberrationen auch im funktionell einsträngigen G_1 -Chromosomen induziert werden. Bauchinger zeigt dies auch in der schon oben zitierten weiteren Untersuchung über Endoxan induzierte Chromatidaberrationen. Brewen (1965) vermutet, daß strahleninduzierte Chromatiddefekte in der sehr späten G_1 -Phase ausgelöst werden können. Befunde nach Lindahl-Kiessling (1970, zit. nach Bau. 1971) ergaben, daß nach einer Behandlung einer Lymphocytenkultur mit 3H -Uridin durch ^{60}Co -Bestrahlung fast viermal soviel Chromatidbrüche in G_1 als in S ausgelöst werden können. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Wolf (1970, zit. nach Bau. 1971) nach Röntgen-Bestrahlung von Lymphocyten.

3.6 Unspezifische Chromosomendefekte (U - Zellen)

In der vorliegenden Arbeit wurden als unspezifische Chromosomendefekte nur sogenannte "Gaps" gefunden. Gaps sind als Feulgen - negative Regionen anzusehen (achromatische Lücken), ohne daß damit eine echte Diskontinuität der Chromosomenstruktur verbunden ist.

Bei der Gruppe der Bechterew - Patienten wurden in 2,98% der Zellen Gaps gefunden, bei den Tuberkulose - Patienten in 1,77% der Zellen. Diese Werte liegen nicht über denen der Kontrollen. Sie liegen etwas niedriger als die von verschiedenen Autoren angegebenen Werte. Sämtliche Autoren finden unmittelbar nach Bestrahlung signifikant erhöhte Werte für Veränderungen vom U - Typ. Durchschnittlich im sechsten Jahr nach Bestrahlung gleichen sich diese Werte ihren entsprechenden Kontrollen an.

Sämtliche U - Zellen sind in Abbildung 2b und 3b dargestellt. Da diese unspezifischen Aberrationen nicht über den Werten der Kontrollen liegen, wurden sie registriert, einem weiteren Interpretationsversuch aber nicht unterworfen.

3.7. Numerische Aberrationen (N - Zellen)

Bei der Gruppe der Bechterew - Patienten fanden sich in 97,7% der Zellen modale N - Zellen ($n = 46$). An nicht-modalen N - Zellen ($n+1$) wurden 12 Mitosen gefunden (0,7%). Im hypodiploiden Bereich ($n-1$) fanden sich 39 Mitosen (2,64%). Bei den Tuberkulose - Patienten wurden 10 Zellen (0,84%) mit 47 Chromosomen und 37 Zellen (3,1%) mit 45 Chromosomen gefunden. Auf eine Zählung von Zellen mit einer größeren Abweichung von der modalen Chromosomenzahl als ± 1 wurde verzichtet, da eine höhere Zahl durch präparationsbedingte Artefakte zustande zu kommen scheint. Einige Autoren werteten schon Abweichungen von ± 1 des modalen Chromosomensatzes als präparationsbedingte Artefakte und bezogen sie deshalb in ihre Wertung nicht mit

ein. Polyploidien wurden beobachtet, aber wegen der Schwierigkeit sie zu beurteilen, in die Wertung nicht einbezogen.

In einer Zusammenfassung einer Reihe von Arbeiten im Unscear-Report (1969) wird nach Bestrahlung von Lymphocyten über ein gehäuftes Auftreten von hypodiploiden Zellen gegenüber hyperdiploiden Zellen berichtet. Dies kann auch mit den vorliegenden Zahlen bestätigt werden. Das vermehrte Auftreten von hypodiploiden gegenüber hyperdiploiden Zellen überrascht. Eine Schädigung des Centromers, der Centriolen oder des Spindelapparates durch ionisierende Strahlen ist vorstellbar und damit auch eine Fehlverteilung von Chromosomen während der Zellteilung. Es wären dann allerdings gleichviel hyperdiploide wie hypodiploide Zellen zu erwarten. Eine befriedigende Erklärung für dieses Phänomen ist noch nicht gefunden.

3.8. Verhalten der Aberrationshäufigkeit zur Strahlenmenge

Bauchinger (1971) hat den Versuch unternommen, eine Dosis - Wirkungs - Beziehung herzustellen, und gleichzeitig auf die dabei auftretenden Schwierigkeiten hingewiesen. Warren und Meisner (1965) waren die ersten, die einen formelhaften Bezug zwischen Dosis und Wirkung herstellten. Sie fanden, daß die Häufigkeit von Zellen mit Chromsomenaberrationen mit dem Produkt aus der Dosis in rad und der Feldgröße in cm^2 zunahm.

In der Abbildung 6 wurden die prozentualen Chromosomenaberrationen der 19 Bechterew - Patienten gegen die Strahlendosis in rad aufgetragen. Das selbe geschah für die Chrom.-Aberrationen der 12 mit ^{224}Ra bestrahlten Tuberkulose - Patienten. Die These, daß mit steigender Skelettdosis die Aberrationshäufigkeit steigt, kann anhand der Werte beider Patientenkollektive 15 bis 20 bzw. 20 bis 25 Jahre nach Bestrahlung nicht bewiesen werden. Dies ist aus mehreren Gründen erklärlich. Die Ausbeute an Chrom.-Aberrationen war relativ gering, was, wie in Kapitel 3.1 dargestellt wurde, durch den großen

zeitlichen Abstand zwischen Defektsetzung und Chromosomenuntersuchung erwartet werden konnte. Einer statistischen Berechnung sind damit Grenzen gesetzt.

Die Art der ionisierenden Strahlung, das Alter der Patienten bei Behandlungsbeginn und -ende, zeitlicher Abstand der einzelnen Bestrahlungen untereinander, Anzahl der Injektionen mit ^{224}Ra Strahlenmenge pro Injektion, Inkorporierung, Teilkörperbestrahlung oder gemischte Strahlung, unterschiedliche Schädigung des hämatopoetischen Systems und unterschiedliche räumliche Verteilung im Körper machen es äußerst schwierig, nicht nur Vergleiche mit den Ergebnissen anderer Autoren sondern auch Vergleiche mit den Ergebnissen der eigenen Patienten untereinander anzustellen. Für jeden Patienten ergibt sich eine andere Konstellation der oben angeführten Parameter.

Selbst die prozentualen Ergebnisse von 5 Patienten der Bechterew - Gruppe, die die gleiche Strahlenmenge von 67 rad erhalten hatten, entziehen sich mit einer Schwankung zwischen 1,9 und 8% an Aberrationen einer vergleichenden Wertung.

Erst wenn es gelingt, standardisierte in vitro Methoden unter Einbeziehung sämtlicher Parameter auf in vivo Bedingungen zu übertragen, wird man genaueres über Dosis - Wirkungs - Beziehungen sagen können.

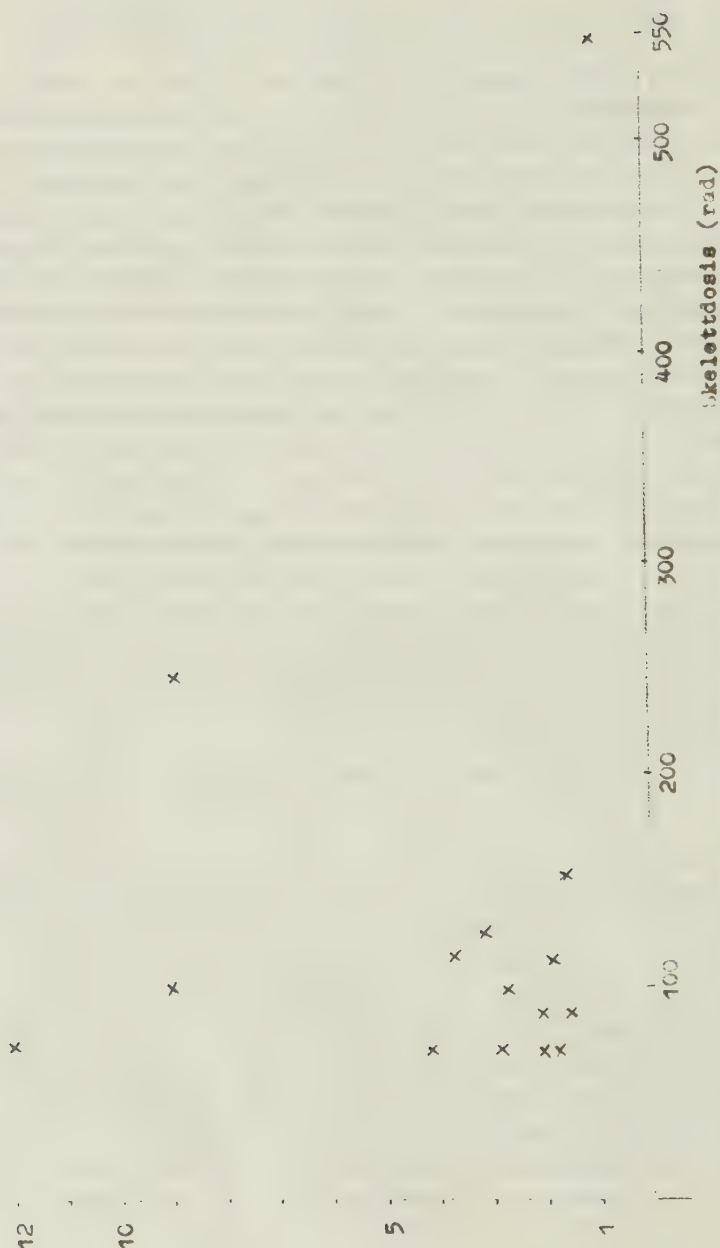


ABB. 6 (PATIENTEN MIT ONDYLARTRITIS ANKYLOPOETICA)
 STROMAURELLE ODER KOSMOMENABERÄTUNEN (BRÜCHE) IN PROZENT
 IN ABHÄNGIGKEIT ZUR SKELETTDOSE IN RAD

8

6

4

2

Aberrationen in %

x - 42 -

500

1000

1500

2000

2500

3000

3500

4000

4500

5000

Skelettdosis (rad)

ABB. 7 (PATIENTEN MIT TUBERKULOSE)

STRUKTURELLE CHROMOSOMENABERRATIONEN (BRÜCHE) IN PROZENT

IN ABHÄNGIGKEIT ZUR SKELETTDOSIS IN RAD

x

x

x

x

x

x x

4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde das Auftreten von strahlen-induzierten Chromosomenaberrationen in Kulturen aus peripheren Lymphocyten von 19 an Bechterew erkrankten Patienten und 12 an Knochentuberkulose erkrankten Patienten untersucht. Sämtliche Patienten waren mit dem Strahlentherapeutikum ^{224}Ra (Thorium X) in Form des "Peteosthor" behandelt worden. Die niedrigste Strahlendosis bei den Bechterew - Patienten betrug 56 rad, die höchste 549 rad. Die niedrigste Strahlendosis der Tuberkulose - Patienten lag bei 285 rad, die höchste bei 5200 rad. Die Bechterew - Patienten waren im Durchschnitt bei Behandlungsende 38 Jahre, bei Anlegen der Chromosomenkultur 54 Jahre alt. Die Tuberkulose - Patienten hatten bei Behandlungsende das Durchschnittsalter von 16 Jahren und bei Anlegen der Chromosomenkultur das Alter von 38 Jahren.

Bei den Bechterew - Patienten wurden 1478 Zellen ausgewertet. Es fanden sich 40 strukturelle Aberrationen (2,7%) vom S_1 -Typ. An unspezifischen Chromosomendefekten vom U - Typ wurden 44 Aberrationen (2,98%) gefunden. An numerischen Aberrationen fanden sich 51 Zellen (3,34%).

Bei den Tuberkulose - Patienten wurden 1185 Zellen ausgewertet. Es fanden sich 24 strukturelle Aberrationen (2,03%) vom S_1 - Typ und 21 unspezifische Chromosomendefekte (1,77%) vom U - Typ. In den Kontrollen wurden 4 Brüche (2,66%) vom S_1 - Typ beobachtet. Die Tatsache, daß dieser Kontrollwert höher liegt als der der untersuchten Gruppe, wird diskutiert. Mit numerischen Aberrationen (± 1) wurden 47 Zellen (3,8%) gefunden.

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen, daß 15 bis 20 Jahre nach Strahlenbelastung für die Gruppe der Bechterew - Patienten bzw. 20 bis 25 Jahre für die Gruppe der bestrahlten Tuberkulose - Patienten strahleninduzierte Chromosomenaberrationen noch gefunden werden. Allerdings läßt sich aus diesen beiden Patientenkollektiven keine Beziehung zwischen Aberrationshäufigkeit und Strahlendosis herstellen.

5 Literaturverzeichnis

- Antoshina, M.M., Kozlov, V.M., Bocharov, N.P.: Effekt of x-rays on Human chromosomes, IV. Dynamics of chromosome aberrations in a leukocyte culture in a course of several mitosis. Genetica (Leningrad) 5/7, 114-120 (1969)
- Arakaki, D.T., Sparkes, R.S.: Mikrotechnique for culturing leukocytes from whole blood. Cytogenetics 2, 57-60 (1963)
- Bauchinger, M.: Untersuchungen über cytogenetische Wirkung von wasserlöslichen Röntgenkontrastmitteln Zeitschrift für Zellforschung 63, 506-537 (1964)
- Bauchinger, M.: Chromosomenaberrationen nach Radium - Röntgentherapie gynäkologischer Tumoren. Strahlentherapie 131, 109-121, (1966)
- Bauchinger, M.: Chromosomenaberrationen und ihre zeitliche Veränderung nach Radium - Röntgentherapie gynäkologischer Tumoren. Strahlentherapie 135/5, 553-564 (1968)
- Bauchinger, M., Schmid, E., Hug, O.: The relevance of chromosome aberration yields for biological dosimetry after low level occupational irradiation IAEA-SM 143/13, Wien 23.-27.11.1970
- Bauchinger, M.: Chromosomenaberrationen in menschlichen peripheren Lymphocyten nach Einwirkung von ionisierenden Strahlen und Endoxan. München 1971
- Bender, N.A., Gooch, P.C.: Persistent chromosome aberrations in irradiation human subjects. Rad. Res. 16, 44-53 (1962)

- Bender, M.A., Gooch, P.C.: Persistent chromosome aberrations in irradiated human subjects. II. Three and one half year investigation.
Rad. Res. 18, 389-396 (1963)
- Bender, M.A., Brewen, J.G.: Factors influencing chromosome aberration yields in the human peripheral leukocyte system.
Mutation Res. 8, 383-399 (1969)
- Bloom, A.D., Tjio, J.H.: In vivo effects of diagnostic X- irradiation on human chromosomes.
New Engl. J. Med. 270, 1341 (1964)
- Bloom, A.D., Neriishi, S., Kamada, N.: Cytogenetic investigation of survivors of Hiroshima and Nagasaki (1966) Lancet, 627 - 674
- Bloom, A.D., Chromosome aberrations in leukocytes of older survivors of the atomic bombings of Hiroshima and Nagasaki (1967) Lancet 14, 802 - 805
- Brewen, J.G.: Cell - cycle and radiosensitivity of the chromosomes of human leukocytes.
Int. J. of Rad. Biol. 9, 391-397 (1965)
- Buckton, K.E., Jakobs, P.A., Court-Brown, W.M., Doll, R.: A study of chromosome damage persisting after X-ray therapy for ankylosing spondylitis.
Lancet 2, 676-682 (1962)
- Buckton, K.E., Pike, M.G.: Chromosomes investigations on lymphocytes from irradiated patients: Effekt of time in culture.
Nature 202, 714 - 715 (1964)
- Buckton, K.E., Pike, M.G.: Time in culture, an important variable in studying in vivo radiation-induced chromosome damage in man.
Int. J. Rad. Biol. 8, 439 - 452 (1964)

- Buckton, K.E., Court-Brown, W.M., Smith, P.G.: Lymphocyte survival in men treated with X-rays for ankylosing spondylitis
Nature 214, 470-473 (1967)
- Buckton, K.E., Smith, P.C., Court-Brown, W.M.: The estimation of lymphocyte lifespan from studies on males treated with X-rays for ankylosing spondylitis.
In Human Radiation Cytogenetics. Evans, H.J., Court-Brown, W.M., McLean, A.S., Eds., North-Holland Publishing Co., Amsterdam 106-114 (1967)
- Conen, D.E.: Chromosome damage in an infant after diagnostic X-irradiation Lancet 2, 47 (1961)
- Court-Brown, W.M., Abratt, J.D.: The incidence of leukemia in ankylosing spondylitis treated with X-rays.
Lancet 1, 1283 (1955)
- Court-Brown, W.M., Buckton, K.E., McLean, A.S.: Quantitative studies of chromosome aberrations in man following acute and chronic exposure to X-rays and -rays.
Lancet 1, 1239-1241 (1965)
- Court-Brown, W.M.: Studies on chromosome damage following in vivo human radiation exposure.
Proc. Roy. Soc. Edinburgh 70, 125-131 (1968)
- Doida, Y., Sugahara, T., Horikawa, M.: Studies on some radiation-induced chromosome aberrations in man.
Rad. Res. 26, 69-83 (1965)
- Fischer, P., Golob, E., Kunze-Mühl, E.: Chromosome aberrations in peripheral blood cells in man following chronic irradiation from internal deposits of Thorotrast.
Rad. Res. 29, 505-515 (1966)

- Fischer, P., Golob, E., Kunze-Mühl, E., Müllner, T.:
Chromosome aberrations in persons with Thorium.
Dioxid.
Human Rad. Cytoge. - North-Holland, Amsterdam (1967)
- Fitzgerald, D.H.: The lifespan and role of the small
lymphocyte. in Hum. Rad. Cytoge. - North-Holland,
Amsterdam (1967)
- Fürmaier, A.: Bericht über 20 Fälle von Knochen- und Gelenk-
tuberkulose, die mit Peteosthor behandelt wurden.
Verh. Dtsch. Orthop. Ges. 36, 115-117 (1947)
- Gerlach, J.: Über den Verbleib radioaktiver Stoffe im Orga-
nismus nach parenteraler Zuführung.
Naturwiss. 20, 300 (1941)
- Goodlin, R.C.: Preliminary reports of chromosome studies
during rediation therapy.
Amer. J. Roentgenol. 87, 555-558 (1962)
- Heddle, J.A., Evans, H.J., Scott, D.: Sampling time and the
complexity of the human leukocyte system.
In Hum. Rad. Cytoge. - North-Holland, Amsterdam
6-19 (1967)
- Ishiara, T., Kumatori, T.: Chromosome aberrations in human
leukocytes irradiated in vivo and in vitro.
Acta Haem. Jap. 28, 291-307 (1965)
- Hsu, T.C.: Mammalian chromosomes in vitro. I. The karyo-
type of man J. Hered. 43, 167 (1952)
- Leujeune, J., Gautier, M., Turpin, R.: Etude des chromosomes
somatiques de neuf enfants mongoliens.
C. R. Acad. Sci. (Paris) 248, (1959)
- Kumatori, T., Ishiara, T.: Chromosome abnormalities of
leukocytes observed in Thorotrast injected cases.
Natl. Inst. Radiol. Sci., Chiba, Japan
Ann. Rep. 3, 62 (1963)

- Lindgreen, M., Norpyd, C.: Chromosome aberrations in one of a pair of identical twins after roentgen irradiation of the spine *Hereditas* 48, 688 (1962)
- Massimo, L., Vianello, M.G., Dagna-Bricarelli, F.: Alterazione Cromosomiche dei Leucociti Indotte nel Bambino da Irradiazioni Diagnostiche. *Acta Genet. Med.* 14, 282 (1965)
- Millard, R.E.: Abnormalities of human chromosomes following therapeutic irradiation. *Cytogenetics* 4, 277-294 (1965)
- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M., Hungerford, D.A Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Expt. Cell Res.* 20, 613-616 (1960)
- Müller, W.A.: Studies on short-lived internal -emitters in rats *Int.J. Rad. Biol.* 20, 27-38 (1971)
- Norman, A., Sasaki, M.S., Ottoman, R.E., Fingerhut, A.G.: Elimination of chromosome aberration from human lymphocytes. *Blood* 27, 706-714 (1966)
- Patau, K., Smith, D.W., Therman, E., Inhorn, S.L., Wagner, H.P.: Multiple congenital anomaly caused by an extra autosome *Lancet* 1, 790 (1960)
- Sasaki, M.S., Ottoman, R.E., Norman, Ph.D.: Radiation-induced chromosome aberrations in man. *Radiology* 81, 652 (1963)
- Sasaki, M.S., Norman, A.: Selection against chromosome aberrations in human lymphocytes. *Nature* 214, 502-503 (1967)
- Sasaki, M.S., Miyata, H. Biological dosimetry in atomic bomb survivors *Nature* 220, 1189-1193 (1968)

- Scheer, K.E.: Die Verteilung der radioaktiven Substanz nach intravenöser Zufuhr von Peteosthor. Die Speicherung von Th X und Th B in den Organen der Ratte. *Ärztl. Forsch.* 4, 161-164 (1950)
- Spiess, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur parenteralen Thorium X Anwendung
Z. Exper. Med. 117, 567-586 (1951)
- Spiess, H.: Über Anwendung und Wirkung des Peteosthors bei pulmonaler und extrapulmonaler Tuberkulose im Kindesalter. - Zugleich eine allgemeine Stellungnahme zur Th X Therapie.
Z. Kinderhk. 70, 213-252 (1952)
- Spiess, H., Poppe, H., Schön, H.: Strahleninduzierte Knochentumoren nach Thorium X Therapie.
Meschr. für Kinderheilkunde 110, 198-201 (1962)
- Spiess, H., Mays, Ch.W.: Bone cancers induced by ^{224}Ra (Th X) in children and adults.
Health Physics 19, 713-727 (1970)
- Spiess, H. und Mays, Ch. W.: Protection effect on bone-sarcoma induction of ^{224}Ra in children and adults, in *Radionuclide Carcinogenesis Proceedings of the Twelfth Annual Hanford Biology Symposium at Richland, Washington, May 10-12, 1972*, pp 437-450, AEC Symposium Series 29, published by U.S. Atomic Energy Commission Office of Information Services (1972)
- Tjio, J.H., Levan, A.: The chromosome number of man
Hereditas 42, 1 (1956)
- Tough, I.S., Euckton, K.E., Baikie, A.G., Court-Brown, W.M.: X-ray induced chromosome damage in man
Lancet 2, 849-851 (1960)

Troch, P.: Peteosthor: Neue Wege des Heilens
Braunschweig (1949)

Unsear-Report: Report of the United Nations Scientific
Committe on the effekts of atomic radiation.
General Assembly. 24th Session. Radiation-
induced chromosome aberrations in human cells.
Suppliment No. 13 (A/7613) United Nations,
98-155, New-York 1969

Warren, Sh., Meissner, L.: Chromosomal changes in leuko-
cytes of patients receiving irradiation therapy.
Amer. J. Med. Ass. 193, 351-358 (1965)

Für die Überlassung des Themas, Diskussion der Ergebnisse und Korrektur der Arbeit danke ich Herrn Priv.-Doz.Dr.med. J.D. Munken.

Herrn Prof. Dr. med. H. Spiess danke ich für die Möglichkeit, meine Arbeit im Genetischen Labor der Kinderpoliklinik der Universität durchzuführen.

Frau R. Frankenberger danke ich besonders für die Einführung in die experimentelle Arbeit, für hilfreiche Rat-schläge und praktische Hilfe bei der Herstellung der Chromosomenpräparate.

Lebenslauf

Am 10. Oktober 1942 wurde ich in Bad Warmbrunn, Schlesien, als 6. Kind des Arztes Dr. Carl Wiederholt und seiner Frau Anna-Maria geboren.

Nach Volksschule und humanistischem Gymnasium mit abschließendem Abitur studierte ich ab Sommersemester 1965 Chemie an der Freien Universität Berlin. 1966 begann ich in München mit dem Medizinstudium. Nach Vorphysikum 1967 und Physikum 1968 legte ich im Herbst 1971 das Staatsexamen ab.

Vom 1.2.1972 bis 31.1.1973 war ich als Medizinalassistent in Rosenheim (Chirurgie), an der 1. Medizinischen Universitätsklinik und an der 1. Frauenklinik der Universität in München tätig. Vom 1.2.1973 bis 30.4.1974 kam ich meiner Wehrpflicht als Stabsarzt und Bataillonsarzt eines Pionierbataillons in Ingolstadt nach.

